



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TRANSFERENCIA MITOCONDRIAL DE CÉLULAS TRONCALES
MESENQUIMALES Y SU POSIBLE APLICACIÓN EN MEDICINA
REGENERATIVA VETERINARIA: ESTUDIO DE REVISIÓN

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MEDICA VETERINARIA
ZOOTECNISTA

PRESENTA

XIMENA SILVA LEMUS

ASESORES

MVZ. Santiago René Anzaldúa Arce

MVZ. Héctor Villaseñor Gaona



Ciudad Universitaria, Cd. Mx.

2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mis papás con todo mi amor, respeto y admiración:

A mi mamá María de Jesús Lemus Aguilar la persona a la que más felicidad y orgullo le daría este momento de mi vida por verme realizada y feliz. Gracias por seguirme enseñando aún sin estar físicamente. Te amo infinitamente mamá, esto siempre ha sido para ti.

A mi papá Federico Silva Rosas a quién este logro le pertenece pues me ha enseñado con el ejemplo más que con sus palabras que alcanzar lo que uno quiere es a base de esfuerzo y sacrificio. Gracias por absolutamente todo lo que haces por mí, por amarme en días oscuros y guiarme cada día. Eres mi mayor inspiración en la vida. Te amo y admiro profundamente.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, a Dios por permitirme llegar hasta este momento pues como todo en la vida, el camino se fue tornando muy complicado, sobre todo los últimos años, pero logré llegar hasta este lugar sin importar las adversidades, más fuerte y con muchas ganas de seguir.

A mis papás a quienes ni si quiera esta vida me alcanza para agradecerles todo el amor, esfuerzo, sacrificio y dedicación que hicieron para que yo llegara hasta este lugar donde todos los padres desean ver a los hijos. Los amo con todo lo que soy. Simplemente gracias por todo, me tocaron los mejores papás del mundo.

A Max, mi perrito, gracias por ayudarme a descubrir el camino, gracias por guiarme, darme amor, por estar para mi en las noches de desvelo por un examen importante donde solo te veía a un lado de mi sin importar la hora que fuera, gracias por haber sido mi fiel compañero tantos años. Gracias por tanto amor mi niño. Te amo hoy siempre.

Al MVZ. Héctor Villaseñor Gaona por orientarme y cobijarme cuando no supe que seguía, por darme las oportunidades que nadie te brinda y menos si eres inexperto, joven y sin habilidades. Gracias por ser guía, pero sobre todo gracias por ser un gran amigo e inspiración durante estos años. Estoy profundamente agradecida contigo por tanto cariño, apoyo y enseñanzas. Te adoro y admiro profundamente.

Al MVZ. Santiago René Anzaldúa Arce a quién no hubiera tenido el gusto de conocer si no hubiera sido por el MVZ. Villaseñor pero que sin conocerme no dudo ni un segundo en brindarme todo lo necesario para poder realizar este trabajo de

investigación y confiar en mí. Gracias por convertirse en un buen amigo y un gran apoyo durante todo este trayecto. Mi respeto y admiración siempre con usted.

A mis amigos de la carrera, comenzando con Fer Shehin e Isabel Toussaint quienes fueron mis primeras amigas en esta etapa de mi vida y quienes siempre estuvieron para mí en momentos de estudio y en momentos muy difíciles de mi vida. Las amo profundamente y estoy muy agradecida con ustedes por tanto amor y apoyo.

A mi team de amigos “lojavengers” a Kenya León, Aldair Solís, Miguel Villanueva y Eduardo López gracias por haber formado una familia en la que siempre me sentí parte, gracias por darme cariño, muchas risas y mucho apoyo. Han sido piezas clave en cada uno de mis pasos, dándome su mano, un consejo o incluso un regaño. Los amo muchísimo, son la familia más disfuncional, loca y sincera que siempre quise.

A Scarlet Villaseñor por ser luz en días que parecían laberintos, por acompañarme, darme tanto cariño y estar para mí siempre. Gracias por enseñarme a ver la vida más bonita, sin tantas nubes grises, con más paz y más color. Te amo changuito, gracias por ser la hermana que siempre quise tener.

Y, por último, pero no menos importante un agradecimiento especial a todas las personas que siempre estuvieron para mí, que creyeron y me apoyaron. Gracias por formar parte de mí.

Este trabajo de tesis fue financiado por la Dirección General de Asuntos de Personal Académico (DGAPA) a través del proyecto PAPIIT clave IN223520 título “caracterización histomorfológica y análisis inmunohistoquímico de células con

marcadores de pluripotencia en órganos del tracto reproductor de perras de diferentes edades".

CONTENIDO

I.	Resumen	8
II.	Introducción.....	9
III.	Procedimiento.....	12
IV.	Generalidades sobre células troncales del adulto.....	13
	a. Células troncales somáticas o del adulto.....	15
	b. Tipos de células troncales del adulto.....	16
	c. Células troncales mesenquimales.....	16
	d. Mecanismo de acción en medicina regenerativa.....	17
	i. Factores paracrinos.....	18
	ii. Contacto célula-célula.....	19
	iii. Inmunomodulación.....	20
	iv. Migración.....	21
	e. Plasticidad, inmunomodulación y su importancia en medicina regenerativa.....	22
V.	Mitocondrias y biología de las células troncales.....	24
	a. Dinámica mitocondrial	
	b. Intervención mitocondrial en los procesos regenerativos inducido por las células troncales mesenquimales.....	25
VI.	Transferencia mitocondrial y medicina regenerativa veterinaria	27
	a. Transferencia mitocondrial.....	28
	b. Mecanismos de transferencia mitocondrial.....	29
	i. Nanotubos de tunelización (TNT's).....	29

ii.	Vesículas extracelulares (EV).....	31
iii.	Fusión celular.....	33
iv.	Uniones comunicantes.....	33
c.	Métodos de internalización de mitocondrias en la transferencia...34	
d.	Perspectivas terapéuticas de la transferencia mitocondrial en medicina regenerativa.....	36
i.	Aplicación en sistema nervioso.....	36
ii.	Aplicación en aparato cardiovascular.....	39
iii.	Aplicación en aparato respiratorio.....	40
iv.	Aplicación en aparato urinario.....	41
v.	Aplicación en aparato locomotor.....	42
vi.	Aplicación en enfermedad injerto contra huésped (EICH)....	43
vii.	Aplicación en cáncer.....	44
viii.	Aplicación en piel.....	46
e.	Perspectivas: aplicación en el envejecimiento y enfermedades mitocondriales.....	49
i.	Aplicación en el envejecimiento.....	50
ii.	Aplicación en enfermedades mitocondriales	51
f.	Riesgos, limitaciones y retos de la transferencia mitocondrial como estrategia terapéutica.....	53
VII.	Conclusiones.....	56
VIII.	Referencias.....	59

I. RESUMEN

SILVA LEMUS XIMENA. Transferencia mitocondrial de células troncales mesenquimales y su posible aplicación en medicina regenerativa veterinaria: estudio de revisión (bajo la dirección de: MVZ, Anzaldúa Arce René Santiago y MVZ, Villaseñor Gaona Héctor). La transferencia mitocondrial (TM) a partir de células troncales mesenquimales (MSC) puede utilizarse para mediar los efectos paracrinos encaminados al rescate celular de tejidos y órganos lesionados al incrementar la respiración aeróbica, disminuir la apoptosis y la respuesta inflamatoria, inducir la diferenciación y proliferación de células, favoreciendo la reparación tisular. Se realizó una investigación bibliográfica en la biblioteca de la FMVZ- UNAM utilizando los buscadores: Science Direct, PubMed y Google Scholar y la base de datos de: Ovid y EBSCO. La TM se puede realizar por fusión celular, tunelización por nanotubos, captación de mitocondrias aisladas, formación de túneles de actina F y microtúbulos, por vesículas extracelulares y por nexos. Las principales aplicaciones terapéuticas de la TM se han enfocado en el tratamiento de afecciones: respiratorias, cardiovasculares, urinarias, nerviosas, enfermedades mitocondriales, enfermedad injerto contra huésped, estrategias contra el cáncer y el envejecimiento. Entre los principales riesgos y limitaciones para su uso terapéutico están: efectos dañinos en TM alogénica y xenogénica, quimio resistencia de células cancerosas; se debe conocer en cada padecimiento: mecanismo de acción, vías de administración, dosis efectivas, utilidad a largo plazo, respuestas adversas y autoinmunes. Aún se requiere mucha investigación para que la TM sea una alternativa terapéutica a futuro.

Palabras clave: transferencia mitocondrial, células troncales mesenquimales, medicina regenerativa.

II. Introducción

Las células troncales (del inglés stem cells, SC) son un tipo de células que se caracterizan por la autorrenovación, y la diferenciación en uno o más tipos celulares distintos a la célula original (1–4). Las SC se dividen según su origen en tres grupos principales: SC embrionarias (ESC) y SC del adulto (ASC) o SC somáticas, y las SC pluripotentes inducidas (iPSC); la diferencia principal es su grado de diferenciación o de potencial de formar diversos tipos o linajes celulares. Además, las iPS no se generan espontáneamente en el organismo, sino que deben obtenerse por procedimientos experimentales (5,6).

Las ESC se obtienen de la masa celular interna del blastocisto, son células que pueden cultivarse de manera indefinida y pueden diferenciarse en cualquiera de los 220 tipos celulares que constituyen un organismo animal, provenientes de alguna de las tres hojas blastodérmicas (endodermo, mesodermo y ectodermo), por lo que se consideran células pluripotentes (2).

Las ASC son células indiferenciadas y muy escasas pero distribuidas en prácticamente todos los órganos y tejidos. Están presentes en animales después del nacimiento y dependiendo de su capacidad de diferenciación pueden dividirse en: multipotenciales, si dan origen a diversos linajes celulares multipotentes (tal es el caso de las células troncales hematopoyéticas presentes en la médula ósea, que son capaces de diferenciarse en todos los elementos figurados de la sangre),

oligopotentes si originan algunos pocos linajes (como las células troncales neurales que pueden originar distintos tipos de células de la neuroglia además de neuronas), bipotentes si originan dos linajes (como las células troncales de la glándula mamaria que originan las células epiteliales glandulares y las células mioepiteliales) y unipotentes cuando originan un solo tipo celular como las espermatogonias que originan finalmente a los espermatozoides (6). Las SCA mantienen la homeostasis tisular al reemplazar a las células propias del tejido u órgano cuando éstas mueren, ya sea por daño, desgaste o apoptosis y pueden permanecer largo tiempo en los tejidos u órganos, ya que persisten durante toda la vida del animal (1,6).

Las células troncales mesenquimales (MSCs) son una población celular que puede diferenciarse *in vitro* en células de varios linajes de origen mesodérmico como el osteogénico, condrogénico, adipogénico, miogénico, tenogénico y estromal (4,7–9). Estos distintos tipos celulares pueden identificarse por medio de tinciones especiales como son: rojo de alizarina (para osteogénesis), rojo Oleoso “O” (para vesículas lipídicas), von Kossa (para matriz extracelular calcificada) y azul alciano (para proteoglicanos sulfatados) (10).

Algunos estudios muestran que las MSC escapan del reconocimiento inmune e inhiben la respuesta inmunológica (9). Esta propiedad inmunomoduladora facilita y las hace muy apreciadas para su uso clínico de manera alogénica en la medicina regenerativa. Para explicar este fenómeno se han sugerido diversas acciones que tratan de explicar su eficacia: interferencia en la maduración y la función de las células dendríticas y/o anulación de la proliferación de linfocitos y de las células NK y una inmunogenicidad débil. La mayoría de los reportes indican una baja o nula

expresión de proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase II (9). A pesar de todas estas hipótesis, la manera en que las MSC evitan ser detectadas por el sistema inmune no es completamente clara aún.

En un principio todos los mecanismos de regeneración tisular fueron atribuidos a las MSC (o SC en general) injertadas en tejidos u órganos dañados y a su subsecuente transdiferenciación, proceso de cambio de un tipo celular a otro con forma y funciones diferentes, en tipos celulares que participan en la reparación y/ o sustitución de las células dañadas. Sin embargo, los estudios en los modelos y los pacientes animales indicaron que existe un número muy bajo de las MSC trasplantadas en el tejido u órgano lesionado y del mismo modo no se observó transdiferenciación de las células originales. Por lo que se piensa que los efectos biológicos y terapéuticos de las SC depende fundamentalmente de su secreción paracrina (11). Las MSCs son candidatos muy atractivos para su uso clínico alogénico en medicina regenerativa por su capacidad de inmunomodulación (9), sin embargo, también tiene la desventaja de tener importantes implicaciones en el crecimiento tumoral.

Las MSC pueden servir como un vehículo para la transferencia de mitocondrias (TM) que implica la incorporación de genes mitocondriales o la incorporación de mitocondrias a una célula receptora a las células (12). Se ha demostrado que el potencial terapéutico de las MSC se debe no únicamente al reemplazo celular y a los efectos paracrinicos sino también a la TM a células y tejidos lesionados para poder modular y optimizar su metabolismo celular *in situ*.

Se han postulado diversos mecanismos de acción de las MSC en los órganos y tejidos lesionados, uno de ellos es la transdiferenciación en los tipos celulares necesarios para la regeneración tisular, otro es la liberación paracrina de citocinas y exosomas que influyen en las células ya existentes o bien mediante la transferencia mitocondrial (TM) lo que es un novedoso concepto poco conocido en el ámbito médico.

La TM intercelular tiene gran potencial para mantener la homeostasis corporal y regular los procesos patológicos. La TM se produce por diferentes mecanismos, incluidos los nanotubos de túnel (TNT), las vesículas extracelulares y los canales de unión gap (13). Múltiples grupos de investigación han desarrollado métodos de transferencia/ trasplante mitocondrial artificial (AMT/T) que transfieren mitocondrias sanas a células dañadas y recuperan su función celular (13).

El objetivo de este estudio de revisión es dar un panorama general sobre los mecanismos de transferencia mitocondrial, sus limitaciones, riesgos y sus posibles perspectivas de aplicación en un futuro en medicina regenerativa. Sin embargo, para poder emplear MSCs en medicina regenerativa veterinaria en un futuro, es fundamental conocer las limitaciones y los riesgos.

III. Procedimiento

Se realizó una búsqueda de la información en dos fuentes principales: la primera a través de libros especializados sobre el tema y la segunda por medio de artículos científicos publicados en revistas indexadas.

Para la primera parte de este trabajo que se refiere a conceptos generales sobre células troncales, células troncales del adulto (“Generalidades sobre células troncales del adulto”). Se buscó la información pertinente principalmente en libros especializados y recientes provenientes de la biblioteca “MV José de La Luz Gómez” de la FMVZ de la UNAM. Los criterios de selección para estos libros fueron: título (correspondientes al grado de especialización del texto), año de publicación, utilizando los más recientes a los que se pudieron acceder al momento de la elaboración del trabajo.

Para la segunda y tercera parte del trabajo (“Mitocondrias y biología de las células troncales” y “Transferencia mitocondrial y medicina regenerativa veterinaria”) se utilizaron artículos indexados especializados en el tema mediante los siguientes buscadores en internet: Google Scholar, Science Direct y PubMed. Las bases de datos utilizadas fueron: EBSCO y Ovid. Las palabras claves utilizadas fueron: “stem cells”, “veterinary regenerative medicine”, “Mesenchymal stem cells”, “mitochondria and stem cells”, “mitochondrial transfer and stem cells”

IV. Características generales de las células troncales

Las células troncales (SC) se definen como las células de organismos vivos no especializadas o diferenciadas, inmaduras, con alta capacidad de autorreplicarse y diferenciarse en uno o más tipos celulares especializados con funciones específicas en el organismo (14,15). Cuando una SC se diferencia y se divide, la división es asimétrica, lo que lleva a la formación de una célula idéntica y una célula hija que tiene propiedades de un tipo celular específico (14). También las SC pueden multiplicarse de manera simétrica, en este caso las dos células hijas son idénticas

entre sí, pudiendo ser dos células troncales (con lo que se incrementa el número de estas células) o células con cierto grado de diferenciación (con lo que disminuiría el número de SC).

Según su origen se dividen en tres grupos principales: SC embrionarias (ESC) y SC de adulto (ASC) o SC somáticas, y las SC pluripotentes inducidas (iPSC) (1). Por otro lado, tienen una clasificación de acuerdo al grado de diferenciación que poseen:

- Células troncales totipotentes que poseen el mayor potencial de diferenciación, siendo capaces de dividirse y diferenciarse en todo el organismo, incluido el embrión y estructuras extraembrionarias, un ejemplo de ello, el cigoto.(1)
- Células troncales pluripotentes aquellas que pueden formar todas las capas germinales, pero no pueden generar las estructuras extraembrionarias, como el saco vitelino, el alantoides o el amnios, en esta clasificación se encuentran las ESC. (1)
- Células troncales multipotentes que poseen un rango de diferenciación más estrecho, generalmente se pueden diferenciar únicamente en tipos celulares que provienen de una de las tres hojas blastodérmicas, aquí se encuentran las células troncales del adulto por su limitada capacidad de diferenciación, un ejemplo de ellas son las células hematopoyéticas que puede diferenciarse en varios tipos de células sanguíneas. (1)
- Células troncales oligopotentes que se diferencian en pocos tipos celulares, un ejemplo son las células troncales neurales que pueden diferenciarse en células nerviosas y en algunos tipos celulares de la neuroglia (1,6).

- Células troncales tripotentes que se diferencian en tipos celulares altamente específicos, por ejemplo, la célula precursora neural que origina tres tipos celulares los astrocitos, los oligodendrocitos y las neuronas.(1,16).
- Células troncales bipotentes se diferencian en dos tipos de células funcionalmente diferentes como SC de la glándula mamaria que se diferencian en células glandulares y células mioepiteliales (1).
- Células troncales unipotentes que se clasifican por el potencial de diferenciación más estrecho y una propiedad específica de divisiones repetidas, se observa en el testículo en el que las SC sólo se diferencian en el linaje que origina a los espermatozoides (1).

a. Células troncales somáticas o del adulto

Las células troncales somáticas o del adulto (ASC) son células que no están diferenciadas y se encuentran latentes en su nicho dividiéndose asimétricamente produciendo otras células troncales y células de ciclo rápido o amplificadoras de transitorias, las cuales se someten a un número limitado de divisiones antes de que se diferencien en células funcionales de un tejido en particular. Los distintos tipos celulares son específicos del sitio o del órgano donde se encuentren y a su vez pueden clasificarse desde multipotentes hasta unipotentes (1).

Las funciones de estas células son permitir la reparación tisular, el crecimiento y el remplazo de las células que se pierden cada día (6).

b. Tipos de células troncales del adulto

Las ASC se pueden clasificar en términos generales como ectodérmicas, mesodérmicas y endodérmicas, según su origen de desarrollo. En las endodérmicas encontramos a las SC del tracto gastrointestinal, SC pancreáticas, SC hepáticas. Las de origen mesodérmico son las SC hematopoyéticas, SC cardíacas, SC prostáticas, SC de testículo y SC de ovario, SC estromales mesenquimales y células satélite ubicadas en el músculo. Las ectodérmicas son SC oculares, SC cutáneas, SC de glándula mamaria y SC neurales. (1)

c. Células troncales mesenquimales

Las células troncales mesenquimales (MSC) son células troncales adultas multipotentes que pertenecen a un subgrupo no hematopoyético que se originan del mesodermo y tienen la capacidad de autorrenovarse y de acuerdo con algunas evidencias experimentales que aún son controversiales, podrían diferenciarse en células de todas las capas germinales, es decir, en células del endodermo, mesodermo y ectodermo (17,18), este fenómeno se conoce con el nombre de plasticidad, sin embargo aún no se ha podido comprobar de manera inequívoca. Además, las MSC se encuentran en médula ósea, tejido adiposo, líquido amniótico, sangre periférica, placenta y gelatina de Wharton y también pueden aislarse y expandirse *in vivo* e *in vitro*. (17)

Dentro de sus funciones dentro del área de terapia celular, juegan un papel importante en la reparación de lesiones, se cree que son responsables del

crecimiento, cicatrización de heridas y la sustitución de células que se pierden por el desgaste diario y las condiciones patológicas. Debido a estas funciones, se ha demostrado que son eficientes en el tratamiento de lesiones tisulares y enfermedades degenerativas. (18)

d. Mecanismo de acción de las MSC en medicina regenerativa

La terapia celular basada en células troncales se describe como el proceso de introducción de células troncales a un tejido para tratar una enfermedad con o sin terapia génica. La terapia con MSC se ha desarrollado porque no tiene implicaciones éticas como las tienen las células troncales embrionarias (ESC) pues estas son tomadas de la masa celular interna de embriones en estadios tempranos que conlleva la destrucción del embrión original. Por ello comenzó a desarrollarse la terapia con células pluripotentes inducidas (iPSC) tanto las ESC como las iPSC por sus propiedades poseen alto potencial de formar teratomas (18). Dentro de los inconvenientes que presentan la utilización de iPSC, se encuentran la baja eficiencia de la reprogramación de células primarias, lo que dificulta la generación de células iPSC específicas del paciente a partir de pequeñas poblaciones de células iniciales, otro inconveniente es la integración de transgenes virales en el genoma somático, especialmente con oncogenes como c-MYC y KLF4 (se debe tener en cuenta que la reactivación del retrovirus, el oncogén c-MYC contribuye a la formación de tumores en ratones quiméricos derivados de células iPS) (19).

Con el paso del tiempo y con la investigación que se hace día con día se ha encontrado que algunas iPSC y sus derivados están generando respuestas inmunológicas, en teoría esto no debería de suceder pues la mayoría son trasplantes autólogos o isogénicos, sin embargo, debido a sus características genéticas y epigenéticas anómalas y su inestabilidad genómica pueden provocar un rechazo inmunológico (19).

Debido a la importancia clínica de la aplicación de las MSC para tratar el daño tisular, existe una necesidad urgente de caracterizar el mecanismo de acción de las MSC. En un estudio reciente, sugieren que sus mecanismos de acción pueden atribuirse a su capacidad de secretar factores paracrinos, incluidas vesículas extracelulares (EV) entre ellos se encuentran los exosomas y citocinas, transferir mitocondrias a células cercanas, migrar y modificar la respuesta inmune (20).

i. Factores paracrinos

Las MSC liberan factores biológicamente activos que forman el secretoma, que es el conjunto de factores bioactivos derivados de las MSC (proteínas solubles, ácidos nucleicos, lípidos y vesículas extracelulares) y puede afectar en el microambiente local modificando las actividades normales de otras células (20,21). En el secretoma se encuentra el efecto terapéutico de las MSC adultas que puede ocurrir a través de estas acciones mediadas por factores paracrinos y se ha documentado que las proteínas que secretan estas células son antimicrobianas, anti fibróticas y proregenerativas que ejercen efectos sobre procesos como la angiogénesis, la proliferación y la diferenciación, la modulación inmunitaria, cicatrización de heridas,

regeneración ósea y reparación renal y cardíaca (20). Dentro de la secreción paracrina y de acuerdo a sus propiedades inmunomoduladoras, el secretoma incluye la secreción de algunas sustancias como lo es el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), el factor de crecimiento hepático (HGF), la indolamina 2,3-dioxigenasa-1 (IDO-1), la interleucina 10 (IL-10), antagonista del receptor de IL-1 (IL-1Ra) y prostaglandina E2 (PGE2). (21)

Además, pueden mediar la transferencia de cargas mitocondriales (energía en forma de ATP) y no mitocondriales, lo que contribuye a mejorar la energía intercelular. En un estudio, se examinó la eficiencia de las vesículas extracelulares y exosomas como nuevos enfoques libres de células para revisar la actividad de las MSC sin necesidad de administrar células (22). Uno de los principales retos de las terapias celulares es la interacción entre las células injertadas con las células ya existentes del huésped. La influencia terapéutica de las células troncales depende en gran medida de la modulación de las células huésped en lugar de la diferenciación en los tejidos del huésped, pues estas tienen una supervivencia y un injerto positivo relativamente bajos después del trasplante (22). El desarrollo de la terapia celular está basado en el desarrollo de opciones sin fármacos o sin cirugía, solo usando el secretoma como medida terapéutica evitando los rechazos por injerto o trasplante. (20,22).

ii. Contacto célula-célula

Las MSC se diferencian de otras terapias celulares debido a sus interacciones de célula a célula, efectos terapéuticos y el llamado mecanismo de “golpe y fuga”. El contacto célula-célula se produce a través de la formación de uniones comunicantes (o nexos a base de conexones formados por conexinas) o nanotubos de túnel con células adyacentes o cercanas.

Las uniones gap se componen de seis moléculas de conexina y forman un canal o puente citoplasmático entre células adyacentes a través del cual pueden viajar moléculas pequeñas. Las mitocondrias pueden transferirse de una célula a otra debido a su excelente deformabilidad sus dimensiones varían de 0.5 a 1 μm de diámetro y de 0.5 a 10 μm de longitud y muestran variación notable entre los tejidos. Las mitocondrias exhiben cambios morfológicos significativos que les permite atravesar estructuras de TNT (nano túbulos de tunelización) y quedar envueltas en vehículos eléctricos. Sin embargo, el tamaño de los poros de la unión gap es solo de 1.5 a 2 nm, y solo se permite el paso de sustancias con un peso molecular inferior a 1.5 kDa. Por obvias razones las mitocondrias no pueden ser transportadas directamente intercelularmente por las uniones tipo gap (13).

Los nanotubos de efecto túnel permiten la transferencia de moléculas más grandes e incluso orgánulos celulares como las mitocondrias entre células cercanas. Ambas formas de comunicación requieren que las MSC estén muy cerca de la célula diana y permiten la transferencia de moléculas pequeñas, por ejemplo, microARN, péptidos y orgánulos como las mitocondrias, desde las MSC a las células huésped. (20,22)

iii. Inmunomodulación

Las MSC poseen amplias capacidades de inmunomodulación y son capaces de interactuar en las respuestas inmunitarias tanto adaptativas como innatas según el microambiente local o el estado de enfermedad (20).

Las MSC se describen como células inmunoprivilegiadas debido a su falta de moléculas del complejo de histocompatibilidad clase II de la superficie celular y la presencia de moléculas coestimuladoras de células esto permite que las MSC evadan la detección inmunitaria y les permite ser usadas como terapia alógena sin inmunosupresión recurrente. Además, a través de sus efectos paracrinós y la liberación de vesículas extracelulares, como son los exosomas, las microvesículas y los cuerpos apoptóticos, interactúan e inhiben al sistema inmunitario local y sistémico. La inflamación severa hace que las MSC supriman la respuesta inmunitaria, mientras que la inflamación débil conduce a una mejor reacción inmunitaria (20).

iv. Migración

Es la capacidad que poseen las MSC para responder a la entrega sostenida de señales tróficas y el tráfico selectivo hacia el sitio de lesión. La localización específica del sitio requiere el reclutamiento de MSC locales o el trasplante de células exógenas en las proximidades del área blanco. La migración dirigida sigue la activación y polarización de las MSC durante las cuales da lugar a un polo frontal que guía el movimiento intersticial al detectar las quimiocinas liberadas por el tejido

lesionado o inflamado, la migración finaliza después de que las células llegan al sitio de destino. (20)

Aún no se tiene estudiado completamente como es que ocurre el proceso de migración, sin embargo, las MSC circulantes inicialmente se ponen en contacto con el endotelio atando y rodando, dando así la desaceleración de las células, la activación de los receptores acoplados a proteínas G, seguido de una detención que depende de la activación de integrinas, luego las células deben de transmigrar entre las células del endotelio y la membrana basal (por un proceso llamado diapédesis) a través del intersticio hasta el sitio de lesión. Este último paso está mediado por señales quimiotácticas liberadas en respuesta del daño celular. (20)

e. Plasticidad, inmunomodulación y su importancia en medicina regenerativa

La plasticidad de las células troncales se puede entender como la capacidad de diferenciación que tienen estas para dar lugar a la formación de un tejido esperado, pero también a un tejido no esperado, es decir que puede traspasar los límites de su origen de capa germinal (ectodermo, mesodermo y endodermo) y por lo tanto bajo ciertas circunstancias se podrían “transdiferenciar” en respuesta a señales regenerativas micro ambientales. La transdiferenciación describe la conversión de una célula de un linaje específico en otra de un linaje distinto al de su origen embrionario, como puede ser, por ejemplo, células de origen mesodérmico que originan células de origen endodérmico o ectodérmico, esto conlleva a la pérdida

correspondiente de marcadores y funciones del linaje original y a la adquisición de ambas características del tipo celular transdiferenciado. (2,23)

Las MSC son prometedoras para aplicaciones terapéuticas, debido a su estabilidad genética, su escasa inmunogenicidad y sus propiedades para la reparación de tejidos y la inmunomodulación. La manera más común de obtención de estas células es en el cordón umbilical, la médula ósea y los adipocitos. Además de su potencial de diferenciación se ha informado que las MSC regulan la respuesta inmunitaria en muchas enfermedades, la terapia con MSC se podría utilizar para la inmunomodulación, principalmente en el rechazo inmunitario y la autoinmunidad, incluidas afecciones como el trasplante de HSC (enfermedad injerto contra huésped), el trasplante de órganos sólidos, la enfermedad de Crohn, la artritis reumatoide y el lupus eritematoso sistémico.(24)

Aunque los mecanismos subyacentes de inmunomodulación aún no se han aclarado, es muy probable que estén mediados por factores solubles y mecanismos que dependen del contacto celular en respuesta a las células inmunitarias. En numerosos estudios, se ha demostrado que las MSC regulan los sistemas inmunitarios adaptativos e innatos mediante la supresión de las células T y la maduración de las células dendríticas, reduciendo la activación y proliferación de las células B e inhibiendo la proliferación y la citotoxicidad de las células NK y promueven la generación de células T reguladoras a través de factores solubles o mecanismos de contacto célula-célula (25).

Recientemente se ha planteado que las células troncales estromales mesenquimales (nombre que algunos autores le dan a las MSC) tienen una función

inmunomoduladora *in vivo*, esto se refiere a que puede prevenir la activación inapropiada de linfocitos T, pero también al generar un ambiente telorogenico es decir, que tiene la capacidad de inducir tolerancia inmunológica en el organismo durante la reparación de heridas y terminar la respuesta inmune en el saneamiento de las mismas. Por estas razones, las MSC participan en el mantenimiento de la homeostasis en la respuesta inmune. (2)

Debido a las propiedades inmunosupresoras de las MSC, aunado a su potencial de diferenciación son células muy atractivas para el desarrollo de protocolos de terapia celular. Sin embargo, para poder evaluar de manera adecuada el beneficio de las MSC como terapia de inmunomodulación se requiere mayor investigación científica, por lo tanto, las redes de señalización entre las MSC y las células inmunitarias son puntos clave en la modulación de la respuesta inmunitaria. (2,24,25)

De acuerdo a la definición publicada en la revista "Regenerative Medicine" en 2008 la medicina regenerativa es un campo interdisciplinario que se utiliza para regenerar o sustituir células o tejidos dañados y restaurar la función alterada por causas que comprenden malformaciones congénitas, enfermedades y traumatismos (2). Las células troncales mesenquimales pueden ser administradas por vía intravenosa al torrente sanguíneo o directamente en el tejido dañado. Por otro lado, la terapia celular se define como la transferencia de células vivas a un individuo hospedero, con la intención de introducirle nuevas funciones o de corregir funciones defectuosas. La terapia celular es, entonces, un área de la medicina regenerativa en la que las células troncales mesenquimales juegan un papel preponderante (2,26).

Las MSC poseen características biológicas que las hacen ideales para emplearlas en la terapia celular pues poseen baja inmunogenicidad, un amplio potencial de diferenciación, capacidad para secretar factores que favorecen la remodelación de tejidos y sus propiedades inmunorreguladoras. Por sus características, se convierten en células ideales para tratar muchos padecimientos como la enfermedad injerto contra huésped (EICH), enfermedades autoinmunes, enfermedades de hueso, cartílago, riñón, pulmón, hígado, cardiovasculares y de sistema nervioso. (2,25)

V. Mitocondrias y biología las células troncales

a. Dinámica mitocondrial

Las mitocondrias son conocidas como las principales centrales energéticas de la célula, ya que producen la mayor parte de la energía en forma de ATP requerida por la célula, pues produce el 80% del total de ATP y utiliza entre el 85 y 90% de oxígeno de la célula (27,28). Las mitocondrias son cruciales en la apoptosis, la necrosis, la autofagia, la regulación del estrés oxidativo, la producción de lípidos y carbohidratos, síntesis de hormonas esteroideas, el almacenamiento de calcio y la inmunidad, por lo tanto, la disfunción mitocondrial está asociada con muchas enfermedades.(29)

En cuanto a su origen, se piensa que surgieron de una alfa-proteobacteria de un progenitor eucariota y de acuerdo con las hipótesis de Imachi y Nobu et. al (2020) (30), las mitocondrias se desarrollaron a partir de un grupo de arqueas de la familia de Asard llamada "Prometeo". (30)

Se compone de dos membranas una externa y otra interna separadas y funcionalmente distintas que encapsulan el espacio intermembranoso y los compartimientos de la matriz. Contiene un genoma circular que se denomina ADN mitocondrial (ADNmt) que se replica independientemente al genoma huésped, aunque estos dos deben trabajar en conjunto (31). El ADNmt es más susceptible al daño que el ADN nuclear, con una tasa de mutagénesis de 10 a 20 veces mayor que el genoma nuclear debido a que el ADNmt no tiene intrones ni histonas, además está más cerca de los sitios de producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). Uno de los principales productores de daño en el ADNmt son las lesiones por daño oxidativo (27).

Las mitocondrias primero responden al estrés oxidativo intentando mantener su estructura y composición. Esto lo logran mediante la acción de los antioxidantes, la reparación del ADN, el plegamiento y la degradación de proteínas, para que las mitocondrias se puedan mantener sanas es necesario un recambio continuo que se denomina mitofagia que es la eliminación selectiva de mitocondrias a través de la autofagia (29).

Existen dos procesos fundamentales para el buen funcionamiento mitocondrial, la fusión y la fisión. La fusión mitocondrial permite la unión de dos mitocondrias en las interfaces de la membrana interna y externa a través de GTPasas de membrana, también permite la transferencia de productos genéticos entre mitocondrias para un funcionamiento óptimo especialmente bajo estrés metabólico y ambiental. Por otro lado, la fisión es el proceso mediante el cual una mitocondria se divide en dos mitocondrias. Tiene diferentes funciones como la herencia y la partición de

orgánulos durante la división celular, la distribución adecuada de las mitocondrias y la liberación del citocromo c durante la apoptosis. También es crucial para la eliminación de los orgánulos dañados por la mitofagia y su pérdida da como resultado el aumento en el número de mitocondrias alargadas por una fusión desequilibrada. Si existe un desequilibrio entre estos dos procesos se asocia a diversas enfermedades como el cáncer, enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares (32).

Una disfunción en el control de calidad de las mitocondrias y/o la mitofagia está asociada con muchas condiciones patológicas como los son las enfermedades neurodegenerativas y el cáncer. (29)

b. Intervención mitocondrial en procesos regenerativos inducidos por las células troncales mesenquimales

El uso de las mitocondrias derivadas de células troncales mesenquimales (MSC) con fines terapéuticos representa un enfoque innovador para tratar diversas enfermedades como la desregulación inmunitaria, trastornos relacionados con la inflamación, cicatrización de heridas, eventos isquémicos y envejecimiento con un prometedor número de estudios que van desde la investigación preclínica hasta la clínica.(33)

Las MSC tienen la capacidad de reemplazar mitocondrias defectuosas y compensar su mal funcionamiento a través de una donación de mitocondrias de célula a célula que se conoce como TM (33).

VI. Transferencia mitocondrial y medicina regenerativa

Durante la última década, ha habido un interés particular en los diferentes tipos de interacción célula a célula que existen, que incluyen la transferencia de material citoplásmico y orgánulos entre células (22).

La comunicación intercelular es vital para todos los procesos biológicos, incluido el mantenimiento de la homeostasis tisular, la regulación de la función celular y la respuesta a señales ambientales externas que afectan la supervivencia celular. Las células interactúan continuamente entre sí y tienen la capacidad de conectarse con células contiguas y distantes a través de una amplia gama de redes de comunicación como la señalización paracrina, transporte a través de uniones comunicantes y acoplamiento eléctrico mediante uniones comunicantes, túneles de nanotubos (TNT) y secreción de vesículas extracelulares. (22)

a. Transferencia mitocondrial

Durante la última década ha existido un aumento en los estudios que demuestran que la transferencia mitocondrial es uno de los mecanismos emergentes mediante el cual las células troncales mesenquimales (MSC) pueden regenerar y reparar células o tejidos dañados (34). Se ha descubierto que desempeñan un papel fundamental en la curación de varias enfermedades relacionadas con lesiones cerebrales (35), miopatías cardíacas (34), sepsis muscular (34), trastornos pulmonares y trastornos respiratorios agudos (36).

La disfunción mitocondrial está asociada con la mayoría de las enfermedades degenerativas, como las cardiopatías isquémicas, los trastornos pulmonares, los

accidentes cerebrovasculares, lesiones cerebrales y varias enfermedades degenerativas como la miocardiopatía, el Parkinson y el Alzheimer (22). Cabe mencionar que, según los datos estadísticos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), los accidentes cardiovasculares representan la principal causa de muerte en el ser humano (37).

Los investigadores han postulado teorías que sugieren que el estrés oxidativo de las mitocondrias disfuncionales de las células receptoras envía señales ambientales a las MSC que desencadenan la donación de mitocondrias y representa un proceso fisiológico más rápido y económico en la célula para reemplazar mitocondrias disfuncionales en células o tejidos enfermos, esto si se compara con la biogénesis mitocondrial, por esta razón es una alternativa eficaz para atenuar las condiciones de una enfermedad. La transferencia de mitocondrias sanas parece ser una estrategia reparadora eficaz para restablecer varios tipos de células dañadas (34).

La TM ha aparecido como una estrategia terapéutica pues tiene la capacidad de restaurar las necesidades bioenergéticas de las células dañadas. (34)

b. Mecanismos de transferencia mitocondrial

El intercambio de orgánulos entre células, en este caso mitocondrias, puede ocurrir a través de tres medios potenciales: nanotubos efecto túnel (TNTs), vesículas extracelulares y fusión celular. (22)

i. Nanotubos de tunelización (TNTs)

Los TNT son extensiones del citoplasma celular que forma canales abiertos entre las células que se comunican. Se componen predominantemente de actina F, pero también contienen otras proteínas citoplasmáticas relacionadas con el citoesqueleto como la tubulina que forma a los microtúbulos. Existen dos tipos de TNT y su principal diferencia es el diámetro y su conformación, los TNT gruesos están formados de por actina y tubulina, mientras que los TNT delgados están compuestos por únicamente por nanotubos de actina F (38). La formación de este tipo de estructuras tubulares se ha identificado principalmente en sistemas de co-cultivo *in vitro* de varios tipos de células entre ellas las células troncales mesenquimales, células inmunitarias, células neuronales y células cancerosas. (22)

El contacto celular mediado por TNT da como resultado la transferencia de contenido intracelular entre las células que se comunican, aquí existe la presencia de muchas proteínas motoras, como las RhoGTPasas, Miro 1 y Miro 2 que se relacionan con el movimiento sensible al calcio y con proteínas accesorias que permiten el envío eficiente de carga entre células a través de un mecanismo dependiente de actina y miosina. La carga transportada incluye orgánulos grandes como las mitocondrias y vesículas membranosas más pequeñas como los lisosomas. (22)

El mecanismo por el que se logra la transferencia de orgánulos ocurre una vez que el túbulo sobresale de la membrana plasmática de la célula donante, hace contacto y se fusiona con la membrana plasmática del receptor, esto permite la deposición

de orgánulos en el citosol. Sin embargo, aún no está claro si el proceso de fusión es específico y si requiere algún evento de reconocimiento (22).

ii. Vesículas extracelulares (EV)

La transferencia de orgánulos entre células también puede ocurrir a través de su secreción en vesículas extracelulares (EV). Las EV se encuentran en numerosos fluidos corporales incluidos la orina, el plasma y medios de cultivo in vitro. Estas son capaces de transportar lípidos, proteínas, enzimas, moléculas de ARN codificantes y no codificantes. (22)

Los EV incluidos los exosomas, microvesículas y cuerpos apoptóticos, son vesículas de estructura formadas por una bicapa lipídica a nano escala que son secretadas por células que pueden transportar varios lípidos, proteínas, ARN, mARN y mitocondrias. (13)

Los exosomas son pequeñas vesículas recubiertas de membrana homogénea que varían de 30 a 100 nm de diámetro. Se generan a partir de la vía endosomal tardía. Durante la maduración del endosoma, partes de la membrana externa endosomal brota en el interior como vesículas intraluminales que forman cuerpos multivesiculares (MVB), después estos se mueven y se fusionan con la membrana plasmática de la célula lo que conduce a la extrusión de exosomas en el entorno extracelular circundante. La liberación de exosomas está regulada por la activación del citoesqueleto celular. Es bien sabido que los exosomas contienen marcadores endosómicos como CD9 y CD63, así como proteínas de choque térmico y componentes genéticos. (22)

Debido a su tamaño tan pequeño, es poco probable que estos puedan transportar orgánulos grandes como las mitocondrias, pero si son capaces de transferir fragmentos como lo son los complejos proteicos de la cadena transportadora de electrones mitocondrial y ribosomas. (39)

Las microvesículas son estructuras heterogéneas que se forman por la protusión, la gemación externa y la fisión de la membrana plasmática de la célula que posteriormente libera estructuras esféricas que contienen una carga en el espacio extracelular. Al igual que los exosomas, transportan lípidos, proteínas, mRNA y microARN y también se comunican con su objetivo celular a través de interacciones receptor-ligando, fagocitosis, contacto con la membrana y vías endocíticas. (22)

Las microvesículas son las más grandes de los tres tipos de EV, con un diámetro de 50 a 1000 nm, pero también pueden alcanzar tamaños de hasta 10 μm en el caso de células cancerosas, comúnmente se les denomina oncosomas (39). Uno de los mecanismos mejor conocidos de la biogénesis de las microvesículas es el reclutamiento de la proteína TSG101 en la superficie celular por parte de la proteína 1 que contiene en el dominio de arrestina (ARRDC1) (40).

Una célula que muere por apoptosis progresa a través de varias etapas, comienza con la condensación de la cromatina nuclear, seguido por la formación de vesículas en la membrana, hasta la desintegración del contenido celular en distintas vesículas encerradas en la membrana que se denominan cuerpos apoptóticos (41). Los cuerpos apoptóticos se forman solo durante la muerte celular programada y suelen tener un tamaño de 500 a 4000 nm y se caracterizan por la presencia de orgánulos dentro de las vesículas (22).

iii. Fusión celular

La fusión celular es una forma de comunicación intercelular en la que la membrana plasmática de dos células independientes se fusiona manteniendo la morfología nuclear. Al realizarlo, estas células comparten componentes citosólicos y orgánulos, sobre todo si hay una fusión permanente. Por otro lado, la fusión celular parcial implica un intercambio directo pero transitorio de orgánulos subcelulares, como mitocondrias y complejos de proteínas entre células.(13,22)

Estos eventos son extremadamente raros y solo deberían ocurrir bajo ciertas condiciones, razón por la cual es importante una regulación estricta de la proteína de fusión y la expresión del receptor del sitio blanco. Aún no está esclarecido completamente este mecanismo, sigue siendo un tema de estudio el tener conocimiento de cómo es que se desencadena la fusión celular (22,42)

iv. Uniones comunicantes

Las uniones comunicantes están explicadas por el canal de unión Gap (GJC) que es una estructura que une el citoplasma de dos células separadas. Los GJC permiten el transporte pasivo de nutrientes, metabolitos, segundos mensajeros, cationes, aniones y también mitocondrias (43). Las mitocondrias pueden transferirse de una célula a otra debido a su excelente deformabilidad sus dimensiones varían de 0.5 a 1µm de diámetro y de 0.5 a 10 µm de longitud y muestran variación notable entre los tejidos. Las mitocondrias exhiben cambios morfológicos significativos que les permite atravesar estructuras de TNT y quedar envueltos en vehículos eléctricos. Sin embargo, el tamaño de los poros de la unión gap es solo de 1.5 a 2 nm, y solo

se permite el paso de sustancias con un peso molecular inferior a 1.5 kDa. Por esta razón, es que las mitocondrias no pueden y, aún no está esclarecido totalmente, ser transportadas directamente intercelularmente por las uniones tipo gap (42).

La transferencia de mitocondrias por GJC está dado por una conexina que participa en la transferencia transcelular de mitocondrias denominada Cx43. Así mismo se descubrió que mecánicamente, el estrés oxidativo regula la apertura de los canales de esta conexina, en un modelo de lesión pulmonar aguda inducida por lipopolisacáridos se observó que células del estroma de la médula ósea transportan mitocondrias al epitelio alveolar dañado, esto basado en un proceso de intercambio de Ca^{+} y la conexina Cx43 -GJC (43).

c. Métodos de internalización de mitocondrias para el trasplante

El trasplante mitocondrial incluye el proceso de aislamiento, transferencia e internalización de mitocondrias intactas en células o tejidos diana (44).

Se han explorado varias técnicas para aislar mitocondrias, por ejemplo, la centrifugación y la separación magnética mitocondrial fraccionada siendo esta última la más relevante pues es un método para aislar mitocondrias basado en el etiquetado de mitocondrias con anticuerpos marcados magnéticamente como anti-TOM22, que se dirige a la membrana mitocondrial externa (45). Después de la coincubación de las mitocondrias con el anticuerpo durante 30 minutos, el lisado marcado se pasa a través de un campo magnético, lo que da como resultado que las mitocondrias marcadas se dilucidan fácilmente. Aunque es una técnica que

requiere mayor cantidad de tiempo, es un método que aumenta el rendimiento y la pureza de las mitocondrias (44).

Existen varios métodos para inducir la internalización de mitocondrias en las células, hay dos modelos clínicamente relevantes: inyección directa y coincubación. La inyección directa con agujas se ha intentado en modelos animales en entornos clínicos en los que las mitocondrias aisladas se inyectan directamente en las células o tejidos del receptor (46). Por otro lado, en la coincubación las mitocondrias aisladas se incuban en las proximidades o junto a las células receptoras diana, lo que permite que las células absorban las mitocondrias de forma similar a situaciones en las que las células alteradas captan mitocondrias naturalmente (47).

Otra opción que han empleado es el uso de catéter intracoronario, sobre todo en afecciones cardiovasculares, que es una estrategia atractiva para introducir mitocondrias de manera mínimamente invasiva en el tejido objetivo (44,48).

En cuanto a los mecanismos de internalización mitocondrial por parte de las células receptoras, se requieren más estudios para abordar completamente este fenómeno y, en consecuencia, diseñar estrategias de trasplante mitocondrial más efectivas. En un estudio realizado por Kitani et al. (49) y Kesner et al (50), sugirieron la implicación de la macropinocitosis para la internalización de las mitocondrias. Utilizaron un microscopio electrónico de transmisión para observar que las mitocondrias fueron engullidas por células de cáncer de endometrio uterino a través de extensiones celulares y arrugas. Se han realizado más trabajos para investigar a fondo el mecanismo de internalización mitocondrial, mostrando la polimerización

de actina como un mediador potencialmente importante para en la internalización (44).

d. Perspectivas terapéuticas de la transferencia mitocondrial en medicina regenerativa veterinaria

Si bien es cierto que hasta la fecha los estudios que existen del trasplante o TM son pocos, sin embargo, los experimentos que han realizado diferentes investigadores son prometedores pues la mayoría están enfocados en el tratamiento de enfermedades isquémicas del sistema cardiovascular, sistema nervioso central, aparato respiratorio y musculoesquelético e incluso para una variedad de cánceres. (44)

i. Aplicación en sistema nervioso

Las neuronas dependen en gran medida de las mitocondrias para la producción de ATP para impulsar los procesos necesarios para la neurotransmisión. Dado que el cerebro consume el 20% del oxígeno y el 50% de la glucosa suministrada a través de la vasculatura, depende principalmente de la respiración aeróbica de las mitocondrias. Debido a la gran dependencia de las células cerebrales de las mitocondrias, pueden ocurrir varios trastornos neurológicos secundarios a la disfunción mitocondrial. (44)

El accidente cerebrovascular isquémico agudo o derrame cerebral es una de las principales disfunciones neurológicas agudas en perros. Esta anomalía es causada por una alteración en el suministro de sangre. El pronóstico de recuperación depende de la gravedad de los déficits neurológicos (51).

La disfunción mitocondrial es un actor clave en el desencadenamiento de la interrupción constante de la energía celular, el estrés oxidativo y la pérdida neuronal. Actualmente existen opciones limitadas para mitigar el accidente cerebrovascular isquémico agudo, lo que deja al trasplante mitocondrial como una opción terapéutica potencial (44).

Varios estudios en animales han demostrado la viabilidad del trasplante mitocondrial para el accidente cerebrovascular isquémico agudo, Zhang et al. (52) realizó un modelo con ratones donde administraron mitocondrias isogénicas extraídas del músculo pectoral mayor mediante inyección directa en el ventrículo lateral después de un episodio de isquemia de 90 minutos en la arteria cerebral media. Demostró que después de un periodo de recuperación de 4 semanas, en comparación con un grupo control, las ratas que recibieron mitocondrias exhibieron estrés oxidativo celular y apoptosis reducidos, astrogliosis reactiva atenuada y neurogénesis mejorada. Además, observaron una reducción del tamaño del infarto cerebral (52).

La médula espinal de los animales, en especial de perros y gatos, es susceptible a daño por lesiones isquémicas resultantes de un accidente automovilístico por atropellamiento, por una caída, golpes y contusiones en la columna que resulta en la compresión de vertebras y esto lleva a lesiones compresivas en la médula espinal. El tratamiento viable para no comprometer su movilidad es una cirugía para descomprimir la médula espinal con el riesgo de paraplejía (44,53). Un estudio realizado por Fang et al. (54) demostró que después de la isquemia de la médula espinal, las mitocondrias alogénicas extraídas del músculo esquelético administradas a través de la vena yugular, mejoran la función locomotora de las

extremidades inferiores en ratas que fueron sometidas a isquemia hasta 7 días después de la cirugía. Las mitocondrias las introdujeron antes de que ocurriera la reperfusión.

Los resultados que obtuvieron del trasplante mitocondrial alogénico en la isquemia de la médula espinal fue que al ser administradas de manera temprana a la lesión reduce la apoptosis, la inflamación y mejora la función locomotora (54).

Además de la manifestación por lesión, por trauma o isquemia, el sistema nervioso central es susceptible a trastornos cognitivos y psiquiátricos por mecanismos desconocidos hasta la fecha, como lo es la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson. Nitzan et al. (55) en su estudio con un modelo de ratón con enfermedad de Alzheimer (beta amiloide inyectada intracerebroventricularmente) fue tratado por vía intravenosa con mitocondrias humanas recién aisladas y dos semanas más tarde, los ratones tratados mostraron un rendimiento cognitivo significativamente mejor en comparación con los ratones control, avanzando hacia el nivel cognitivo de los ratones Alzheimer. Actualmente, una opción prometedora para el tratamiento de estas enfermedades es la transferencia mitocondrial pues ya existen diversos estudios donde se realizan las pruebas pertinentes en ratones, sin embargo, aún queda mucho por investigar (44).

Aunque no se conoce la existencia de estas dos enfermedades en medicina veterinaria, es importante saber el alcance que esta llegando a tener la TM para el mejoramiento de la calidad de vida de las personas con este padecimiento.

ii. Aplicación en aparato cardiovascular

El corazón es un órgano altamente energético y autónomo que requiere suministro continuo de oxígeno para mantener su función fisiológica. Las mitocondrias proporcionan la energía primaria para el corazón a través de la respiración aeróbica y constituyen el 30% del volumen de los cardiomiocitos (56).

Por lo tanto, la disfunción mitocondrial cardiovascular está estrechamente asociadas con enfermedades cardiovasculares, siendo la isquemia una de las principales causas de daño miocárdico y apoptosis porque el boqueo en el suministro de oxígeno conduce a una disfunción mitocondrial. Se demostró que el trasplante de mitocondrias funcionales autólogas derivadas del músculo pectoral al tejido miocárdico isquémico resultó en un aparente cardio protección y disminuyó considerablemente el tamaño del infarto del corazón después de 4 semanas de recuperación en conejos. Aunque no se reveló el mecanismo específico de la internalización mitocondrial, los resultados demostraron que las mitocondrias trasplantadas podrían aumentar el consumo de oxígeno, la producción de ATP y la secreción de quimiocinas dentro del tejido miocárdico isquémico (56).

Por otro lado, el uso de la TM como opción terapéutica en eventos isquémicos y de reperfusión, como la miocárdica, han mostrado mejorías notorias pues el mecanismo de acción está relacionado con el aumento de la actividad de la cadena de transporte de electrones, la reducción del nivel de radicales libres de oxígeno reactivos y la prevención de la apoptosis y de la necrosis (57).

Las lesiones por isquemia o infarto en el miocardio tienen incidencia en todas las especies por lo que es una terapia que puede aplicarse en todos los pacientes dependiendo del caso.

iii. Aplicación en aparato respiratorio

En el aparato respiratorio las mitocondrias son el indicador crítico de la vasoconstricción pulmonar hipóxica, son las encargadas de mantener una proporción adecuada de respiración pulmonar y perfusión sanguínea que contribuyen en gran medida al desarrollo patológico de hipertensión pulmonar y edema. A diferencia de los vasos sanguíneos sistémicos en los que la hipoxia induce relajación, en el endotelio del músculo liso pulmonar, la hipoxia conduce a la vasoconstricción (44).

En un estudio, Zhu et al. (58) trasplantó mitocondrias alogénicas en ratas provenientes de las células de músculo liso de arteria femoral a las células del músculo liso de la arteria pulmonar *in vitro* y observó que se revirtieron las alteraciones inducidas por la hipoxia en el potencial de la membrana celular, redujo la remodelación vascular pulmonar inducida por hipoxia crónica y mitigó la hipertensión pulmonar en las ratas expuestas a hipoxia crónica (44,58).

En otro experimento realizado por Hsu et al. (59) donde se indujo hipertensión pulmonar y disfunción ventricular izquierda a ratas por medio de una fistula aortocava con derivación a la izquierda y se estudió el trasplante mitocondrial después de tres semanas y demostró que aumentó significativamente las

concentraciones de ATP en el tejido pulmonar y mejoró el rendimiento del ventrículo derecho, lo que incluso resultó en un aumento del diámetro ventricular (44,59).

Los pulmones, así como el cerebro y corazón son propensos al daño isquémico por enfermedad o por procedimientos quirúrgicos (44). En el ámbito de la medicina veterinaria, existen un sin fin de enfermedades que afectan a los pulmones de diversas maneras por lo que podría ser una opción terapéutica en algunos casos previamente evaluados.

iv. Aplicación en aparato urinario

El trasplante mitocondrial ha demostrado eficacia en el tratamiento de la lesión renal aguda en humanos según un estudio por Chen et al. Eventualmente al no haber mejoría el tratamiento se limita al remplazo del órgano o la hemodiálisis (60).

En un estudio realizado se demostró que el trasplante isogénico de mitocondrias mediante una inyección en la arteria renal previene la muerte de las células tubulares renales, restaura la función renal, mejora el daño renal y disminuye la apoptosis inducida por isquemia/reperfusión en ratas (61).

La enfermedad renal aguda es una enfermedad multifactorial que afecta a varias especies animales, está mejor estudiada en perros y gatos. Actualmente existe tratamiento para la enfermedad renal pero no tiene un buen pronóstico, se habla de una mortalidad del 53 al 60% en perros (62). Por esta razón, es una opción prometedora para mejorar la calidad de vida de los pacientes con esta afección.

v. Aplicación en aparato locomotor

También, existen lesiones en las extremidades que comprometen el flujo sanguíneo dando como resultado un cuadro de isquemia-reperfusión en el músculo esquelético lo que se manifiesta como pérdida de la viabilidad muscular y la funcionalidad de las extremidades. La isquemia aguda de las extremidades es la forma más desafiante del cuadro de isquemia-reperfusión del tejido del músculo esquelético (63). Actualmente existen tratamientos no invasivos que apoyan la angiogénesis y el desarrollo de vasos colaterales, sin embargo, no son lo suficientemente efectivos en la restauración adecuada del flujo sanguíneo para rescatar la viabilidad muscular (63).

El trasplante mitocondrial puede prevenir las lesiones graves y mejorar la mortalidad, en un estudio que se realizó con ratones, demostraron que el trasplante mitocondrial realizado con mitocondrias viables que se aislaron del músculo esquelético no isquémico obtenido del mismo cuerpo del paciente y se inyectaron en el músculo isquémico rescató la viabilidad celular y la funcionalidad del órgano. Así mismo, demostraron que aumentó la funcionalidad de los miembros pélvicos de los ratones y disminuyó la apoptosis y el infarto (44,63).

En el ámbito de la medicina veterinaria, podemos verle gran utilidad en las lesiones isquémicas en miembros torácicos y pélvicos en equinos, mejorando de este modo la viabilidad del miembro y la motricidad (64). No solo en equinos tiene utilidad, también en perros y gatos que hayan sufrido un accidente en miembros y sea necesario recuperar la perfusión sanguínea, por ejemplo, después de una cirugía

por fracturas, mordeduras que comprometan el músculo, lesiones profundas en el músculo (65).

vi. Aplicación enfermedad injerto contra huésped (EICH)

La enfermedad de injerto contra huésped (EICH) es una afección potencialmente mortal que aparece comúnmente en pacientes que se han sometido a un trasplante de células troncales hematopoyéticas (trasplante de médula ósea). Es un fenómeno inmunológico que se observa después del trasplante alogénico de células troncales hematopoyéticas, es raro encontrarlo después de una transfusión de productos sanguíneos o después de un trasplante de órganos (66).

La EICH surge de los linfocitos T del donante que atacan los tejidos del huésped. La incidencia es de 40 a 60% en los pacientes trasplantados con presentación aguda y crónica. La EICH cutánea es la presentación más temprana y común y puede presagiar un peor pronóstico (66).

Todavía no se ha establecido ningún agente como una terapia de segunda línea óptima para la EICH ya sea aguda o crónica, pero las células troncales mesenquimales (MSC) se han mostrado prometedoras pues las MSC promueven un entorno inmunosupresor e inmunorregulador a través de mecanismos multifactoriales. Las MSC generalmente son seguras y bien toleradas, y la mayoría de los estudios clínicos han generado resultados de eficacia alentadores, pero sus tasas de respuesta son variables. Las MSC carecen de expresión de antígeno leucocitario humano de clase II lo que permite la administración alogénica sin compatibilidad entre donante y receptor (67).

Durante algunos años se ha venido estudiando la posibilidad del trasplante mitocondrial de MSC a pacientes con EICH, sin embargo, aún hay mucho por descubrir, pues en esta enfermedad parecen no ser suficientes las mitocondrias, sino que es necesario utilizar completamente las MSC (66,67).

En medicina veterinaria tenemos pacientes con enfermedades de la línea blanca y roja en la sangre como la leucemia viral felina, tumores como el linfoma que su último estadio es la leucemia cuando llega a la médula ósea, y leucemia de mastocitos en caninos, todos estos por poner un ejemplo. Con el avance de la medicina regenerativa aplicada a los pacientes veterinarios no parece lejano que en unos años el trasplante de células hematopoyéticas sea una terapéutica a las enfermedades que afectan la médula ósea.

Aún queda mucho por descubrir, incluso en humanos, pero esta enfermedad es el punto clave de atención para mejores pronósticos de vida en los pacientes, se debe recordar que la leucemia afecta principalmente a jóvenes y niños, por lo que es necesario contar con terapéuticas que ofrezcan una esperanza de vida con mayor tiempo y con calidad de vida.

vii. Aplicación en cáncer

Las mitocondrias juegan un papel clave en la regulación del cáncer. Un mecanismo de acción común en los medicamentos contra el cáncer, consiste en eliminar células cancerosas a través de la apoptosis inducida por la disfunción mitocondrial. Actualmente se ha demostrado que la disfunción mitocondrial en las células cancerosas promueve la progresión de la transición epitelial a mesenquimatosas,

esto se da porque cambian su metabolismo, es decir pasan de emplear la fosforilación oxidativa a glucólisis para la producción de ATP, esto incluso en presencia de abundante oxígeno (43). Aunque parezca un desperdicio, las células que se dividen rápidamente desvían los intermedios glucolíticos hacia vías de síntesis de nucleótidos. Este fenómeno se conoce como efecto Warburg (44). El cambio metabólico en las células cancerosas es lo que contribuye a la invasión, metástasis y una resistencia a los medicamentos (68).

La TM contra el cáncer aún no está bien definida, pero se plantea la hipótesis de que el remplazo de mitocondrias disfuncionales por mitocondrias sanas tenga potencial para una nueva estrategia contra el cáncer. (69)

En uno de los estudios que se han realizado por Elliot et al. (70), se ha demostrado la eficiencia del TM en células de cáncer de glándula mamaria. Demostraron que las mitocondrias alogénicas inhibían la proliferación de células cancerígenas y aumentan la sensibilidad a los fármacos en algunas líneas celulares (71). Aún no existe evidencia científica que describa la TM en cada tipo de cáncer, sin embargo, ninguna investigación niega que pueda ser una alternativa en cualquier clase de cáncer.

Enfocado a la medicina veterinaria, el cáncer que mejor se ha descrito en estudios es el de glándula mamaria con buenos resultados por esta razón es una opción con gran utilidad a futuro, pues como es bien sabido el cáncer con mayor incidencia en hembras caninas es el cáncer de glándula mamaria, siendo este uno de los más agresivos con más proliferación y difusión en el organismo (72).

A pesar del futuro prometedor que nos brinda la transferencia mitocondrial para el tratamiento contra el cáncer no todo es beneficioso. Las células troncales tienen la capacidad de entregar mitocondrias funcionales a las células cancerosas oportunistas, lo que resulta ser perjudicial ya que la transferencia mitocondrial puede optimizar o restaurar la maquinaria metabólica disfuncional del tumor (22).

La biogénesis mitocondrial y la respiración son fundamentales para el crecimiento, la supervivencia y la metástasis de células tumorales. La inhibición de la función mitocondrial en las células cancerosas epiteliales podría superar la resistencia a la quimioterapia con antiestrogenos en el cáncer mama, por poner un ejemplo. Muchos fármacos atacan y alteran la función mitocondrial durante el tratamiento del cáncer, las mitocondrias se pueden utilizar para transportar algunos compuestos anticancerígenos prooxidantes como los análogos de la vitamina E y el isotiocinato de feniletilo, que pueden inducir la apoptosis en las células cancerosas mediante la producción de ROS (57).

viii. Aplicaciones dermatológicas

En las células de la piel, la radiación ultravioleta induce la liberación de mensajeros neuroendocrinos-inmunitarios a la circulación para mantener la homeostasis, lo que lleva a la melanogénesis y la proliferación de queratinocitos. Las mitocondrias de la piel desempeñan un papel importante en el apoyo a estos procesos, ya que son un factor esencial en el mantenimiento de la salud y viabilidad de la piel. El exceso de radiación ultravioleta, los contaminantes, las agresiones microbianas y las heridas pueden acumularse con el tiempo en la piel, causando pérdida de funcionalidad y la afectando gravemente la apariencia cosmética (73).

La piel y las mitocondrias de sus células son muy susceptibles a la radiación ultravioleta, pues esto les provoca delecciones del ADN mitocondrial, lo que perturba el flujo de electrones y la producción de energía. Tratar el daño mitocondrial ayudaría a mitigar los daños acumulativos causados por factores ambientales. Las mitocondrias acumulan daño con el tiempo, lo que resulta en senescencia celular. Algunos estudios documentan que el estrés oxidativo inducido por la radiación ultravioleta tipo A y B produce alteraciones en la dermis, concretamente en el ADN. El daño aumenta la disfunción mitocondrial que producirá más radicales de oxígeno, en consecuencia, muchos estudios toman al ADNmt como un marcador del envejecimiento de la piel, típicamente causado por la radiación ultravioleta (73,74).

Actualmente se muestran argumentos a favor del uso de la TM para tratar la piel envejecida y sus células, entre ellos la posibilidad de detener la producción de radicales libres, agregar nuevo material genético y proporcionar un impulso energético para ayudar a las células a prolongar su viabilidad en el tiempo. La piel sana depende del mantenimiento de las mitocondrias funcionales, que podrían ser un objetivo para el desarrollo de tratamientos médicos y cosméticos antienvjecimiento (73).

Actualmente, no existe ningún tratamiento eficaz disponible para el público para revertir el envejecimiento de la piel dirigiéndose a las mitocondrias. Además, ningún producto disponible, incluida la aplicación tópica de sustancias naturales y antioxidantes, ofrece una recuperación sustancial de muchos síntomas del envejecimiento de la piel, como la inestabilidad del ADNmt, la respiración, la producción de colágeno, la neovascularización y la inflamación localizada. Es por

estas razones que la posibilidad de transferir mitocondrias a células de piel senescente o dañada por la edad podría representar una opción viable para el tratamiento de esta (75).

Con base a lo documentado en este artículo, se propone que la TM podría ayudar a la piel y sus células para persistir o recuperarse después de la exposición a factores inductores del envejecimiento y ser viable por más tiempo solo o como complemento a los estándares actuales de cuidado y prevención (73).

Actualmente, en el ámbito de la medicina en general, ya sea humana o veterinaria, la especialización de dermatología ha crecido exponencialmente en los últimos años pues las alteraciones dermatológicas cada vez más están más presentes, la radiación ultravioleta es más violenta y debido a las modificaciones del cambio climático llegan con mayor facilidad y sin tanto esfuerzo a nuestra piel. En el caso de los perros, las razas que poseen un color de pelaje blanco y corto son las más susceptibles para el desarrollo de una patología dermatológica como lo es el carcinoma de células escamosas, siendo en esta patología las razas predisponentes el Bóxer, Pit bull Terrier Americano, Basset Hound, Collie, Dálmata, Staffordshire Bull Terrier y Beagle. La exposición a la radiación ultravioleta implica la supresión del gen p53 que codifica a una proteína que detiene el ciclo celular cuando el ADN se altera, proporcionando de este modo a la célula más tiempo para reparar el daño antes de continuar con la mitosis, si el daño no es reparado la p53 induce apoptosis celular. La luz UV es un cancerígeno común que puede transformar el gen p53 causando mutaciones (76).

Actualmente se les recomienda la aplicación de protector solar a estas razas además de evitar la exposición al sol durante los horarios donde la radiación solar es más potente. Pese a los esfuerzos de prevención de esta enfermedad, aun no hay un tratamiento preventivo eficaz ni uno terapéutico que no sea tan invasivo como la quimioterapia, por estas razones, es que la TM podría ser una terapéutica para mantener por más tiempo la piel con viabilidad y sin alteraciones.

e. Perspectivas, envejecimiento y enfermedades mitocondriales.

El uso de la TM como alternativa terapéutica cada vez ha crecido más y está dirigido como un tratamiento potencial prometedor para una variedad de enfermedades. El desarrollo y la aplicación de la terapia farmacológica dirigida a las mitocondrias aún son lentos y el desarrollo de la tecnología de edición de ADNmt está muy por detrás del de la tecnología de edición de ADN nuclear (42).

La TM abre una nueva puerta al brindar oportunidades adicionales para tratar enfermedades, sin embargo, esta investigación aún está en sus inicios y tiene muchísimos puntos ciegos que atender (42). Aún con lo que falta por averiguar es importante hacer hincapié en puntos que se ha ignorado como es el envejecimiento y qué es lo que sucede en las enfermedades que se heredan por la madre, pues es bien sabido que la carga mitocondrial de un individuo es heredada por la parte materna.

i. Envejecimiento

Las mitocondrias también transmiten señales y producen metabolitos como reguladores que afectan todos los aspectos de la función celular y provocan la senescencia celular. Es importante recordar que en las mitocondrias se obtiene la mayor cantidad de energía por medio de la cadena respiratoria, donde su principal función es el transporte coordinado de protones y electrones, sin embargo, este proceso también conduce a la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en las MSC contribuye a la pérdida de homeostasis, lo que lleva la senescencia celular. Los radicales libres son moléculas inestables que tienen un electrón desapareado, incluido el óxido nítrico (NO), varias de las especies reactivas de oxígeno y sus productos reactivos. Las ROS incluyen aniones superóxido, peróxido de hidrogeno y radicales hidroxilos, aproximadamente el 90% de los cuales se generan en las células por la cadena respiratoria mitocondrial. Otras fuentes que producen ROS incluyen otros factores extrínsecos como la radiación, luz ultravioleta y factores de crecimiento (77).

La senescencia celular se definió originalmente como la pérdida irreversible del potencial replicativo de las células, las células senescentes se acumulan con el envejecimiento en muchos tejidos de mamíferos y no mamíferos. Se ha descubierto que con el envejecimiento disminuye la función mitocondrial en diversos tejidos y órganos del organismo (42,78).

Aún no está claro si las mitocondrias afectan el envejecimiento o si el envejecimiento afecta a las mitocondrias o si ambos se afectan entre sí, pero es seguro que una buena función mitocondrial es beneficiosa para el cuerpo. Los estudios actuales han

demostrado que la TM puede mejorar la proliferación celular y mediar en la reprogramación somática. Por lo tanto, transferir mitocondrias sanas a células senescentes puede convertirse en un nuevo método para revertir el envejecimiento (42).

ii. Enfermedades mitocondriales

Las enfermedades mitocondriales son el grupo más común de trastornos metabólicos hereditarios y se encuentran entre las formas más comunes de trastornos neurológicos hereditarios (79).

Establecer un diagnóstico genético permite a los pacientes con enfermedades mitocondriales tener opciones reproductivas, pero esto es más difícil para las mujeres con mutaciones patogénicas del ADNmt pues es bien sabido que la carga mitocondrial heredada a un individuo es proveniente de la vía materna. Las enfermedades mitocondriales conducen a un defecto primario en la fosforilación oxidativa, el proceso por el cual las células producen ATP, pero otros factores, como la disfunción del ciclo de Krebs y del ciclo del folato, la falta de enzimas intermedias y la acumulación de sustancias tóxicas, entre otros, también podría tener un papel en la enfermedad. Las enfermedades mitocondriales pueden afectar cualquier órgano o tejido, característicamente involucran múltiples sistemas, afectando típicamente a órganos que dependen en gran medida del metabolismo aeróbico y, a menudo, son implacablemente progresivas con una alta morbilidad y mortalidad (79).

Algunas de las enfermedades mitocondriales mejor descritas en el humano son el síndrome de Leigh que es conocido como encefalomielopatía necrotizante subaguda y el síndrome de Alpers-Huttenlocher que es una cerebro hepatopatía de forma grave. El diagnóstico de estas enfermedades se basa en pruebas genéticas, además de análisis histoquímicos y bioquímicos de biopsias de tejido. El tratamiento de pacientes con enfermedades mitocondriales incluye estrategias para reducir la morbilidad y la mortalidad. Se ha estudiado que la prevalencia de enfermedades mitocondriales, se produce debido a la presencia de mutaciones genéticas y una alta consanguinidad (79).

En la medicina veterinaria, es común que exista una alta consanguinidad en las distintas especies con las que trabajamos porque es deseable que conserven sus mejores características de producción, físicas o estéticas cada generación. Sin embargo, es poco o incluso inexistentes las preocupaciones por las enfermedades mitocondriales que pueden llegar a desarrollarse a raíz de esta consanguinidad. Por esta razón, es importante que la investigación a cerca de las mitocondrias y con ello la TM se expanda, pues queda mucho por entender, descubrir y probar para mejorar la calidad de vida y la incidencia de enfermedades, de ser el caso.

f. Riesgos, limitaciones y retos de la transferencia mitocondrial como estrategia terapéutica

Aunque es muy prometedora la transferencia mitocondrial, es inevitable tener en cuenta que todavía hay muchas cosas por considerar. Existen debates sobre si las mitocondrias pueden sobrevivir fuera de sus células objetivo y si pueden mediar en la fosforilación oxidativa en las células huésped. Aunque hay evidencia que sugiere que el órgano de interés absorbe rápidamente las mitocondrias aún se desconoce el número de mitocondrias funcionalmente activas dentro del citosol (44).

Dado que el concepto aún es muy joven, el trasplante mitocondrial debe superar muchos desafíos antes de ser considerado como una opción terapéutica en entornos clínicos pues aún no se estudia que tipo de mitocondrias pueden usarse para cada órganos, por ejemplo, muchas células especializadas pueden requerir ciertos niveles de generación de ATP para satisfacer sus demandas, por esto es importante comprender que fuente de mitocondrias se pueden emplear para el trasplante en una célula particular. Actualmente el trasplante mitocondrial se centra en fuentes de mitocondrias isogénicas, alogénicas y xenogénicas. Aunque es alentador, todavía queda mucho por descubrir y entender sobre el trasplante xenogénico de mitocondrias, quedan preguntas por responder acerca de su eficiencia y seguridad, se debe evaluar si a largo plazo las mitocondrias xenogénicas son capaces de replicarse de manera efectiva en el huésped. En cuanto a los trasplantes alogénicos de mitocondrias, se plantea que son seguros y no median una respuesta autoinmune, sin embargo, otros estudios lo describen como dañino (44).

Otra limitación importante que debe superarse antes de que el trasplante mitocondrial alcance su potencial clínico completo es la entrega específica al sitio. Gran parte de los estudios con animales e incluso con humanos, se han centrado en la inyección directa de mitocondrias en los tejidos diana, si bien esta práctica es en entornos quirúrgicos invasivos, esto no puede ser adecuado para la mayoría de escenarios clínicos donde el acceso directo no es posible, como el tratamiento de accidentes cerebrovasculares isquémicos (44). La evidencia experimental reciente de que las mitocondrias pueden cruzarse y moverse más allá de los límites celulares en una gama amplia de contextos fisiopatológicos, esto desafía el paradigma de la segregación intracelular de las mitocondrias y la herencia del ADNmt, abriendo una nueva que conduce al descubrimiento de un sistema más interconectado, dinámico y funcional (43).

Las dosificaciones no se han establecido plenamente, se han utilizado dosis variables que van de 10,000 a 3 millones de MSCV, o bien de 1 hasta 8 millones de mitocondrias aisladas o bien de 500,000 a 100 millones de vesículas extracelulares provenientes de MSC. Sin embargo, debe establecerse y estandarizarse para cada padecimiento o aplicación clínica la dosis más adecuada,

Las vías de administración son también variables, entre las que se han utilizado se encuentran las siguientes: intravenosa, intraarterial, intranasal, intratecal, intracardiaca, intravítrea, intraperitoneal, intratraqueal, debajo de la cápsula renal, entre otras. Las vías de administración pueden dividirse en general en una vía local y una vía sistémica, la vía local tiene la ventaja de poder concentrar muchas células o mitocondrias en sitio donde se requiere, corroborando que la cantidad deseada

se encuentra en el lugar preciso, el inconveniente es que puede ser invasivo y puede lesionar o perforar los tejidos adyacentes; por otro lado, la vía sistémica no es invasiva, permite introducir grandes cantidades de células o partículas celulares, sin embargo existe el riesgo de permanencia en la circulación sistémica de células con ciertas dimensiones (de 20 hasta 50 μm de largo), con el riesgo inherente de oclusión vascular. La vía sistémica permite realizar varias aplicaciones, pero en todo caso debe saberse la utilidad de hacerlo y la frecuencia adaptada a cada enfermedad o padecimiento, del mismo modo conocer en qué casos es preferible la utilización de las células MSC en lugar de la TM (80).

Debe estudiarse si eventualmente las mitocondrias que se trasplantan tienen la posibilidad de multiplicarse en el huésped y si esto conlleva algún riesgo potencial, del mismo modo la presencia de posibles mutaciones de las mitocondrias que se transfieren y sus posibles efectos dañinos sobre el huésped.

En todos los procedimientos en los que se emplea la TM debe conocerse a fondo el mecanismo de acción y la estrategia de TM más adecuada para poderlo lograr. Del mismo modo saber en cada situación si se prefiere una TM alogénica o xenogénica.

VII. Conclusiones

Cada vez existen más pruebas de que la TM dirigida es un tratamiento potencialmente prometedor para una variedad de enfermedades (tratamiento de afecciones: respiratorias, cardiovasculares, urinarias, nerviosas, enfermedades mitocondriales, eventos isquémicos y de reperfusión, enfermedad injerto contra huésped, estrategias contra el cáncer y el envejecimiento), la TM está recibiendo cada vez más atención porque abre una nueva puerta al brindar oportunidades terapéuticas novedosas. El uso de mitocondrias derivadas de MSC u otras células con fines terapéuticos representan una herramienta innovadora y libre de células para tratar muchas enfermedades particulares como la desregulación inmune, cicatrización de heridas, eventos isquémicos y de reperfusión, así como el envejecimiento con una cantidad cada vez mayor de evidencia prometedora. La evidencia experimental reciente de que las mitocondrias pueden transferirse y moverse más allá de los límites celulares, en una variedad de contextos fisiopatológicos, desafía el paradigma de la segregación intercelular de las mitocondrias y la herencia del ADNmt, abriendo una nueva era que conduce al descubrimiento de un sistema más interconectado, dinámico y funcional.

En cuanto a la dosificación se debe conocer en cada padecimiento: mecanismo de acción, vías de administración, dosis efectivas, utilidad a largo plazo, respuestas adversas y autoinmunes. Del mismo modo saber cuál es la vía más adecuada para la aplicación y el mecanismo de transferencia más adecuado para cada padecimiento.

Por otro lado, la TM tiene aplicaciones potencialmente amplias. Es posible tratar eficazmente con MSC por TM para restaurar las funciones fisiológicas normales de las células y recuperar a los pacientes de una enfermedad. Mientras tanto, la inhibición de la TM de las células del estroma a las células cancerosas puede servir como un objetivo terapéutico potencial.

Aunque todo esto parece muy prometedor, aún existen muchas consideraciones y reservas sobre el trasplante mitocondrial. Específicamente, existen algunos debates sobre si las mitocondrias pueden sobrevivir fuera de sus células objetivo y si estas son capaces de mediar la fosforilación oxidativa en las células del huésped. Aunque hay evidencia que sugiere que las mitocondrias son absorbidas rápidamente por el órgano de interés, aún se desconoce la cantidad de mitocondrias funcionalmente activas dentro del citosol.

El concepto de TM aún es muy joven, y quedan muchos desafíos que superar antes de considerarla una opción terapéutica en entornos clínicos. Es importante responder qué mitocondrias se pueden utilizar para cada órgano, pues existen muchas células con funciones especializadas que pueden requerir ciertos niveles de generación de ATP para satisfacer sus demandas, es importante comprender que fuentes de mitocondrias se pueden emplear para el trasplante de alguna célula en particular. Otras de las incógnitas sería la disponibilidad de ese tipo en particular de mitocondrias y la dosis a emplear.

Actualmente, los estudios sobre TM se centran en fuentes isogénicas, alogénicas y xenogénicas de mitocondrias. Aunque los estudios han demostrado la viabilidad del xenotrasplante, el desarrollo del tema está todavía en sus inicios y requiere mucha

investigación básica para tener certeza de si es seguro y en dado caso, saber sus complicaciones y como tratarlas.

Entre los principales retos a corto plazo para su implementación clínica están: se debe conocer las vías de administración y las dosis más adecuadas en cada caso, conocer a fondo el mecanismo de acción, la eficacia de la TM y su utilidad a largo plazo. Se ha reportado que la TM promueve la quimio resistencia de células tumorales cancerosas y de leucemia. Se debe conocer si a largo plazo las mitocondrias xenogénicas pueden reproducirse en el huésped. Es importante también conocer los padecimientos en los cuales la TM sea insuficiente o insegura y en los que la terapia con MSC completas sea la mejor alternativa. Conocer las posibles respuestas adversas y autoinmunes en cada caso. Se requiere mucha investigación básica aún para que la TM sea una verdadera alternativa terapéutica en un futuro.

Aún queda mucho por investigar para que la TM pueda emplearse como opción terapéutica clínica, sin embargo, es un tema que parece ser prometedor y que con los años será posible tener protocolos con las dosis, los modos de administración y los pronósticos adecuados para cada uno de los pacientes que lo necesiten, alargando la esperanza de vida y por su puesto aumentando su calidad de vida.

VIII. Referencias

1. Chowdhury S, Ghosh S. Stem Cells : Biology and Therapeutics. 1st ed. 2021. Springer Nature Singapore; 2021.
2. Pelayo Rosana, Santa-Olalla Jesús, Velasco Iván. Células troncales y medicina regenerativa. 1st ed. México; 2011. 357 p.
3. Lanza Robert, Atala Anthony. Essentials of stem cell biology. 3rd ed. Estados Unidos: Elsevier; 2014. 679 p.
4. Lanza Robert, Langer Robert, Vacanti Joseph. Principles of tissue engineering. 4th ed. Londres: Elsevier; 2014.
5. Takahashi K, Yamanaka S. Induced pluripotent stem cells in medicine and biology. Development. 15 de junio de 2013;140(12):2457-61.
6. Zakrzewski W, Dobrzyński M, Szymonowicz M, Rybak Z. Stem cells: past, present, and future. Stem Cell Res Ther. 2019;10(1):68.
7. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science. 1999;284(5411):143-7.
8. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Mol Biol Cell. 2002;13(12):4279-95.
9. Gazit Z, Pelled G, Sheyn D, Yakubovich DC, Gazit D. Chapter 14 - Mesenchymal Stem Cells. En: Atala A, Lanza R, Mikos AG, Nerem R, editores. Principles of Regenerative Medicine (Third Edition) [Internet]. Boston: Academic Press; 2019 [citado 16 de marzo de 2023]. p. 205-18.
10. Verdi J, Tan A, Shoaie-Hassani A, Seifalian AM. Endometrial stem cells in regenerative medicine. J Biol Eng. 2014;8:20.
11. Han C, Sun X, Liu L, Jiang H, Shen Y, Xu X, et al. Exosomes and Their Therapeutic Potentials of Stem Cells. Stem Cells Int. 2016;2016:7653489.
12. Zampieri LX, Silva-Almeida C, Rondeau JD, Sonveaux P. Mitochondrial Transfer in Cancer: A Comprehensive Review. Int J Mol Sci. 2021;22(6):3245.
13. Liu Z, Sun Y, Qi Z, Cao L, Ding S. Mitochondrial transfer/transplantation: an emerging therapeutic approach for multiple diseases. Cell Biosci. 2022;12(1):66.
14. Haider KH. Stem Cells : Latest Advances. 1st ed. 2021. Springer International Publishing; 2021.
15. Mayani H. A glance into somatic stem cell biology: basic principles, new concepts, and clinical relevance. Arch Med Res. 2003;34(1):3-15.

16. Wang Z, Sheng C, Li T, Teng F, Sang L, Cao F, et al. Generation of tripotent neural progenitor cells from rat embryonic stem cells. *J Genet Genomics Yi Chuan Xue Bao*. 2012;39(12):643-51.
17. Phinney DG. *Adult stem cells : biology and methods of analysis*. Humana Press; 2011. (Stem cell biology and regenerative medicine).
18. Wei X, Yang X, Han Z peng, Qu F fang, Shao L, Shi Y fang. Mesenchymal stem cells: a new trend for cell therapy. *Acta Pharmacol*. 2013;34(6):747-54.
19. Liu SP, Fu RH, Huang YC, Chen SY, Chien YJ, Hsu CY, et al. Induced pluripotent stem (iPS) cell research overview. *Cell Transplant*. 2011;20(1):15-9.
20. Bagno LL, Salerno AG, Balkan W, Hare JM. Mechanism of Action of Mesenchymal Stem Cells (MSCs): impact of delivery method. *Expert Opin Biol Ther*. 2022;22(4):449-63.
21. Harrell CR, Fellabaum C, Jovicic N, Djonov V, Arsenijevic N, Volarevic V. Molecular Mechanisms Responsible for Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cell-Derived Secretome. *Cells*. 2019;8(5):467.
22. Concise Review: Intercellular Communication Via Organelle Transfer in the Biology and Therapeutic Applications of Stem Cells - Murray - 2019 - STEM CELLS - Wiley Online Library [Internet].
23. Wagers AJ, Weissman IL. Plasticity of adult stem cells. *Cell*. 2004;116(5):639-48.
24. Naji A, Eitoku M, Favier B, Deschaseaux F, Rouas-Freiss N, Suganuma N. Biological functions of mesenchymal stem cells and clinical implications. *Cell Mol Life Sci CMLS*. 2019;76(17):3323-48.
25. Gao F, Chiu SM, Motan D a. L, Zhang Z, Chen L, Ji HL, et al. Mesenchymal stem cells and immunomodulation: current status and future prospects. *Cell Death Dis*. 2016;7(1):e2062-e2062.
26. Rosenberg SA. Cellular therapy: an introduction. *Cancer J*. 2001;7.
27. Annesley SJ, Fisher PR. Mitochondria in Health and Disease. *Cells*. 2019;8(7):680.
28. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of the Cell*. 4th ed. Garland Science; 2002.
29. Yoo SM, Jung YK. A Molecular Approach to Mitophagy and Mitochondrial Dynamics. *Mol Cells*. 2018;41(1):18-26.
30. Imachi H, Nobu MK, Nakahara N, Morono Y, Ogawara M, Takaki Y, et al. Isolation of an archaeon at the prokaryote-eukaryote interface. *Nature*. 2020;577(7791):519-25.

31. Nunnari J, Suomalainen A. Mitochondria: in sickness and in health. *Cell*. 2012;148(6):1145-59.
32. Adebayo M, Singh S, Singh AP, Dasgupta S. Mitochondrial fusion and fission: The fine-tune balance for cellular homeostasis. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2021;35(6):e21620.
33. Velarde F, Ezquerra S, Delbruyere X, Caicedo A, Hidalgo Y, Khoury M. Mesenchymal stem cell-mediated transfer of mitochondria: mechanisms and functional impact. *Cell Mol Life Sci CMLS*. 2022;79(3):177.
34. Paliwal S, Chaudhuri R, Agrawal A, Mohanty S. Regenerative abilities of mesenchymal stem cells through mitochondrial transfer. *J Biomed Sci*. 2018;25(1):31.
35. Liu CY, Lee CF, Wei YH. Role of reactive oxygen species-elicited apoptosis in the pathophysiology of mitochondrial and neurodegenerative diseases associated with mitochondrial DNA mutations. *J Formos Med Assoc Taiwan Yi Zhi*. 2009;108(8):599-611.
36. Mabalirajan U, Dinda AK, Kumar S, Roshan R, Gupta P, Sharma SK, et al. Mitochondrial structural changes and dysfunction are associated with experimental allergic asthma. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2008;181(5):3540-8.
37. Las 10 principales causas de defunción [Internet]. [citado 22 de septiembre de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
38. Driscoll J, Gondaliya P, Patel T. Tunneling Nanotube-Mediated Communication: A Mechanism of Intercellular Nucleic Acid Transfer. *Int J Mol Sci*. 2022;23(10):5487.
39. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol*. 2013;200(4):373-83.
40. Nabhan JF, Hu R, Oh RS, Cohen SN, Lu Q. Formation and release of arrestin domain-containing protein 1-mediated microvesicles (ARMMs) at plasma membrane by recruitment of TSG101 protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(11):4146-51.
41. Akers JC, Gonda D, Kim R, Carter BS, Chen CC. Biogenesis of extracellular vesicles (EV): exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies. *J Neurooncol*. 2013;113(1):1-11.
42. Liu Z, Sun Y, Qi Z, Cao L, Ding S. Mitochondrial transfer/transplantation: an emerging therapeutic approach for multiple diseases. *Cell Biosci*. 2022;12(1):66.
43. Valenti D, Vacca RA, Moro L, Atlante A. Mitochondria Can Cross Cell Boundaries: An Overview of the Biological Relevance, Pathophysiological Implications and Therapeutic Perspectives of Intercellular Mitochondrial Transfer. *Int J Mol Sci*. 2021;22(15):8312.

44. Hosseinian S, Ali Pour P, Kheradvar A. Prospects of mitochondrial transplantation in clinical medicine: Aspirations and challenges. *Mitochondrion*. 2022;65:33-44.
45. Hubbard WB, Harwood CL, Prajapati P, Springer JE, Saatman KE, Sullivan PG. Fractionated mitochondrial magnetic separation for isolation of synaptic mitochondria from brain tissue. *Sci Rep*. 2019;9:9656.
46. Kaza AK, Wamala I, Friehs I, Kuebler JD, Rathod RH, Berra I, et al. Myocardial rescue with autologous mitochondrial transplantation in a porcine model of ischemia/reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2017;153(4):934-43.
47. Kubat GB, Ulger O, Akin S. Requirements for successful mitochondrial transplantation. *J Biochem Mol Toxicol*. 2021;35(11):e22898.
48. Shin B, Saeed MY, Esch JJ, Guariento A, Blitzer D, Moskowitzova K, et al. A Novel Biological Strategy for Myocardial Protection by Intracoronary Delivery of Mitochondria: Safety and Efficacy. *JACC Basic Transl Sci*. 2019;4(8):871-88.
49. Kitani T, Kami D, Matoba S, Gojo S. Internalization of isolated functional mitochondria: involvement of macropinocytosis. *J Cell Mol Med*. 2014;18(8):1694-703.
50. Kesner EE, Saada-Reich A, Lorberboum-Galski H. Characteristics of Mitochondrial Transformation into Human Cells. *Sci Rep*. 2016;6:26057.
51. Gonçalves R, Sanchez-Masian D, Maddox T w., Dukes-McEwan J. Preliminary investigation of serum cardiac troponin I in dogs with acute ischaemic stroke. *J Small Anim Pract*. 2020;61(2):93-100.
52. Zhang Z, Ma Z, Yan C, Pu K, Wu M, Bai J, et al. Muscle-derived autologous mitochondrial transplantation: A novel strategy for treating cerebral ischemic injury. *Behav Brain Res*. 2019;356:322-31.
53. Miller LK, Patel VI, Wagener G. Spinal Cord Protection for Thoracoabdominal Aortic Surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2022;36(2):577-86.
54. Fang SY, Roan JN, Lee JS, Chiu MH, Lin MW, Liu CC, et al. Transplantation of viable mitochondria attenuates neurologic injury after spinal cord ischemia. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2021;161(5):e337-47.
55. Nitzan K, Benhamron S, Valitsky M, Kesner EE, Lichtenstein M, Ben-Zvi A, et al. Mitochondrial Transfer Ameliorates Cognitive Deficits, Neuronal Loss, and Gliosis in Alzheimer's Disease Mice. *J Alzheimers Dis JAD*. 2019;72(2):587-604.
56. Liu D, Gao Y, Liu J, Huang Y, Yin J, Feng Y, et al. Intercellular mitochondrial transfer as a means of tissue revitalization. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):65.

57. Li C, Cheung MKH, Han S, Zhang Z, Chen L, Chen J, et al. Mesenchymal stem cells and their mitochondrial transfer: a double-edged sword. *Biosci Rep.* 2019;39(5):BSR20182417.
58. Zhu L, Zhang J, Zhou J, Lu Y, Huang S, Xiao R, et al. Mitochondrial transplantation attenuates hypoxic pulmonary hypertension. *Oncotarget.* 2016;7(31):48925-40.
59. Hsu CH, Roan JN, Fang SY, Chiu MH, Cheng TT, Huang CC, et al. Transplantation of viable mitochondria improves right ventricular performance and pulmonary artery remodeling in rats with pulmonary arterial hypertension. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2022;163(5):e361-73.
60. Chen Y, Tang X, Li P, Zhou Y, Xue T, Liu J, et al. Bone Marrow Derived Mesenchymal Stromal Cells Ameliorate Ischemia/Reperfusion Injury-Induced Acute Kidney Injury in Rats via Secreting Tumor Necrosis Factor-Inducible Gene 6 Protein. *BioMed Res Int.* 2019;2019:9845709.
61. Jabbari H, Roushandeh AM, Rostami MK, Razavi-Toosi MT, Shokrgozar MA, Jahanian-Najafabadi A, et al. Mitochondrial transplantation ameliorates ischemia/reperfusion-induced kidney injury in rat. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2020;1866(8):165809.
62. Ross L. Acute Kidney Injury in Dogs and Cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2022;52(3):659-72.
63. Orfany A, Arriola CG, Doulamis IP, Guariento A, Ramirez-Barbieri G, Moskowitsova K, et al. Mitochondrial transplantation ameliorates acute limb ischemia. *J Vasc Surg.* 2020;71(3):1014-26.
64. Markel MD, Richardson DW. Noncomminuted fractures of the proximal phalanx in 69 horses. *J Am Vet Med Assoc.* 1985;186(6):573-9.
65. Beale B, McCally R. Minimally Invasive Fracture Repair of the Tibia and Fibula. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2020;50(1):183-206.
66. Ramachandran V, Kolli SS, Strowd LC. Review of Graft-Versus-Host Disease. *Dermatol Clin.* 2019;37(4):569-82.
67. Kelly K, Rasko JEJ. Mesenchymal Stromal Cells for the Treatment of Graft Versus Host Disease. *Front Immunol.* 2021;12:761616.
68. Zong WX, Rabinowitz JD, White E. Mitochondria and Cancer. *Mol Cell.* 2016;61(5):667-76.
69. Seyfried TN. Cancer as a mitochondrial metabolic disease. *Front Cell Dev Biol.* 2015;3:43.

70. Elliott RL, Jiang XP, Head JF. Mitochondria organelle transplantation: introduction of normal epithelial mitochondria into human cancer cells inhibits proliferation and increases drug sensitivity. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;136(2):347-54.
71. Jiang XP, Elliott RL, Head JF. Exogenous normal mammary epithelial mitochondria suppress glycolytic metabolism and glucose uptake of human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat.* 2015;153(3):519-29.
72. Sánchez-Céspedes R, Millán Y, Guil-Luna S, Reymundo C, Espinosa de los Monteros A, Martín de las Mulas J. Myoepithelial cells in canine mammary tumours. *Vet J.* 2016;207:45-52.
73. Balcázar M, Cañizares S, Borja T, Pontón P, Bisiou S, Carabasse E, et al. Bases for Treating Skin Aging With Artificial Mitochondrial Transfer/Transplant (AMT/T). *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;8:919.
74. Hudson L, Bowman A, Rashdan E, Birch-Machin MA. Mitochondrial damage and ageing using skin as a model organ. *Maturitas.* 2016;93:34-40.
75. Krutmann J, Schroeder P. Role of mitochondria in photoaging of human skin: the defective powerhouse model. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2009;14(1):44-9.
76. Silva Gabriela, Juárez Felipe, López Martin, Dávila Margarita. Carcinoma de células escamosas en caninos de Culiacán, Sinaloa, México: Estudio retrospectivo (2006-2014). 2015;XXV(4).
77. Li Y, Wu Q, Wang Y, Li L, Bu H, Bao J. Senescence of mesenchymal stem cells (Review). *Int J Mol Med.* 2017;39(4):775-82.
78. Miwa S, Kashyap S, Chini E, von Zglinicki T. Mitochondrial dysfunction in cell senescence and aging. *J Clin Invest.* 2022;132(13):e158447.
79. Gorman GS, Chinnery PF, DiMauro S, Hirano M, Koga Y, McFarland R, et al. Mitochondrial diseases. *Nat Rev Dis Primer.* 2016;2:16080.
80. Tan YL, Eng SP, Hafez P, Abdul Karim N, Law JX, Ng MH. Mesenchymal Stromal Cell Mitochondrial Transfer as a Cell Rescue Strategy in Regenerative Medicine: A Review of Evidence in Preclinical Models. *Stem Cells Transl Med.* 2022;11(8):814-27.